

ガジュツ由来デヒドロクルジオンの α , β - 不飽和カルボニル構造は Keap1 とのマイケル付加反応に よってヘムオキシゲナーゼ-1 を誘導する

大西正俊、浦崎朋加、江種恭平、久延ちひろ、原田智規、
新門礼華、西ひとみ、前原昭次、北村千波、秦季之、
大橋一慶、澁谷博孝、井上敦子

Phytotherapy Research, **32**, 892-897 (2018).

Curcuma sp.-derived dehydrocurdione induces heme oxygenase-1 through a Michael reaction between its α , β -unsaturated carbonyl and Keap1

Masatoshi Ohnishi, Tomoka Urasaki, Kyohei Egusa, Chihiro Kunobu,
Tomoki Harada, Reika Shinkado, Hitomi Nishi, Shoji Maehara,
Chinami Kitamura, Toshiyuki Hata, Kazuyoshi Ohashi,
Hirotaka Shibuya, Atsuko Inoue

ABSTRACT To elucidate the anti-inflammatory mechanism of Curcuma sp., we investigated whether dehydrocurdione, a sesquiterpene contained in Curcuma sp., induces heme oxygenase (HO)-1, an anti-oxidative enzyme, in RAW 264.7 macrophages. Dehydrocurdione was extracted from the rhizome of Curcuma sp. and its purity was verified by HPLC. Treatment with 10-100 μ M dehydrocurdione transiently and concentration-dependently increased HO-1 mRNA and protein levels. Docking-simulation suggested the presence of the Michael reaction between dehydrocurdione and Kelch-like ECH-associated protein (Keap)1 keeping nuclear factor-erythroid2-related-factor (Nrf)2, a transcription factor, in the cytoplasm. Nrf2 that was definitely free from Keap1 was detected in the nuclei after dehydrocurdione treatment. Subsequently, the HO-1 E2 enhancer, a target of Nrf2, was activated, resulting in HO-1 expression. Also, an investigation using 6-shogaol and 6-gingerol supported the concept that the α , β -unsaturated carbonyl structure plays an important role in the interaction with Keap1. Dehydrocurdione suppressed lipopolysaccharide-induced NO release, a marker of inflammation. Clarification of the HO-1 synthesis increase mechanism revealed in this study will help contribute to the development of novel phytotherapeutic strategies against inflammation-associated diseases.

抄録 背景：ヘムオキシゲナーゼ (HO)-1 は誘導型ヘム分解酵素であり、その産物が抗酸化作用を示す。炎症性疾患治療に HO-1 が関与することが多く報告されている。すなわち、HO-1 の発現は、炎症の軽減・治癒に寄与すると考えられている。そこで我々はガジュツ根に含まれ抗炎症・抗酸化作用が示唆されているデヒドロクルジオンに着目し、その作用メカニズムにおける HO-1 発現の関与について検討した。方法：マウスマクロファージ細胞株である RAW264.7 細胞を用いて検討した。タンパク質発現の解析にはウエスタンブロット法、mRNA 定量にはリアルタイム PCR 法を用いた。

結果・考察:RAW264.7細胞において、デヒドロクルジオンはHO-1タンパク質発現量、mRNAレベルを共に増大させた。HO-1の転写因子であるNF-E2-related factor (Nrf)2は通常、Kelch-like ECH-associated protein (Keap)1と結合し核内移行が抑制されているが、酸化ストレス下ではKeap1が解離し核内移行する。そこでデヒドロクルジオンの作用を検討したところ、デヒドロクルジオン処置により、核内Nrf2レベルの増大傾向が認められた。このことから、デヒドロクルジオンはKeap1/Nrf2経路の活性化によりHO-1の転写を促進していると示唆される。